

Aus der II. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Berlin — Neukölln
(Dirigierende Ärztin: Professor Dr. med. I. Boll)

DIE EINWIRKUNGEN VON CYCLOHEXANOLSULFAT AUF MENSCHLICHES KNOCHENMARK IN VITRO

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin**

vorgelegt von
Heinrich Eitmann
aus Bremen

1977
—

Aus der II. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Berlin - Neukölln
(Dirigierende Ärztin: Professor Dr. med. I. Boll)

DIE EINWIRKUNGEN VON CYCLOHEXANOLSULFAT AUF
MENSCHLICHES KNOCHENMARK IN VITRO

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Heinrich Eitmann
aus Bremen

Referent: Professor Dr. med. Irene Boll

Korreferent: Professor Dr. med. H. Gerhartz



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 8. November 1977

INHALTSVERZEICHNIS

	<u>Seite</u>
EINLEITUNG	1
FRAGESTELLUNG	4
METHODE	5
SIGNIFIKANZBERECHNUNG	7
ERGEBNISSE	11
ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE	42
DISKUSSION	51
ZUSAMMENFASSUNG DER ARBEIT	60
LITERATURVERZEICHNIS	61



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549022_0005

EINLEITUNG

Cyclohexanolsulfat besteht aus dem Alkohol Cyclohexanol und einem Sulfatrest. Cyclohexanol ist eine wasserklare Flüssigkeit mit kampferähnlichem Geruch. Es ist mischbar mit vielen organischen Lösungsmitteln. Anwendung findet es als Lösungsmittel für Fette, Wachse, Öle und anderes. Es entsteht aus Phenol durch katalytische Hydrierung mit Wasserstoff und Nickel (15, 16). In diesem Zusammenhang wird es als Reaktionspartner des Sulfates benötigt, der möglichst wenig Einfluß auf die Proliferation der Knochenmarkszellen haben soll.

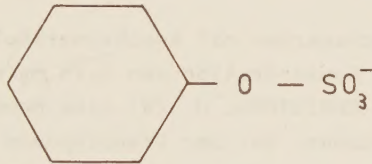


Abb. 1: Cyclohexanolsulfat

Der wichtige Reaktionspartner, dessen Wirkung auf menschliches Knochenmark in vitro untersucht werden soll, ist das Sulfat. Wesentlicher Bestandteil dieser Verbindung ist der Schwefel. Schwefel wird zum größten Teil in Form von schwefelhaltigen Aminosäuren (Cystein, Cystin, Methionin) vom Menschen über die Nahrung aufgenommen. Nur ein geringer Teil wird als Sulfat-schwefel resorbiert.

In der Leber wird der Aminosäure-Schwefel zu Sulfatschwefel oxidiert. Er kann bei Bedarf unter Energieverbrauch in "aktives Sulfat" (Phosphoadenosin-Phosphosulfat = PAPS) überführt werden. Das ist in vielen Organen möglich. "Aktives Sulfat" wird für die Synthese von Sulfatiden, Chondroitinsulfat, Keratinsulfat und Heparin verwandt. Das ebenfalls entstehende anorganische Sulfat gelangt in die Blutzirkulation und wird über die Niere ausgeschieden. Täglich werden etwa 0,6 bis 1,0 g Schwefel ausgeschieden.

Ein anderer Teil des Schwefels befindet sich im Erythrocyten. Es ist in den Enzymen Glutathion und Ergothionin enthalten. Diese beiden Verbindungen aktivieren den Katalysator Ferrochelatase. Die Ferrochelatase katalysiert den Einbau von 2-wertigem Eisen in den Protoporphyrin-9-Ring. Insofern ist Schwefel für die Hämoglobinbiosynthese von Bedeutung.

Der Gehalt des Blutes an Schwefel beträgt 2 - 5 mg/ml (6, 18).

Es stellt sich nun die Frage, warum gerade Cyclohexanolsulfat für diese Untersuchung an Knochenmarkkulturen in vitro herangezogen wird.

Bei früheren Versuchsserien mit Knochenmarkkulturen mit Prednisolonacetat in der Konzentration von 0,25 µg/ml fanden WEISSENFELS/BOLL (21) und CHRISTOPH, U. (9) eine Hemmung der Proliferation der Erythropoese. Bei der Granulopoese war dieser Effekt weniger ausgeprägt.

In einer neueren Untersuchung fand SCHELLACK, A. (20) in der gleichen Konzentration von 0,25 µg/ml durch Prednisolonsulfat eine Reifungsstimulierung der Erythropoese. Zusätzlich fand er in der Granulopoese eine schwache Reifungshemmung.

KOCH, H.M. (17) fand bei einer Konzentration von 0,25 µg/ml durch Fluocortolon Überwiegend eine signifikante Reifungshemmung der Erythro- wie der Granulopoese. Die Regeneration ist wie bei WEISSENFELS/BOLL gleichfalls vermindert.

HEINES, W. (14) dagegen fand bei gleicher Konzentration Fluocortolonhemisulfat eine Proliferationsförderung der Erythropoese. In der Granulopoese fand er eine Reifungshemmung und eine Regenerationsförderung. Zu einem entsprechenden, wenn auch abgeschwächten Ergebnis kam er durch Zusatz von 0,25 µg/ml Dexamethasonhemisulfat.

WILDE, G. (23) kam bei der Untersuchung eines Zusatzes 0,25 µg/ml Dexamethasonsulfat zum gleichen Ergebnis wie HEINES, nämlich zu einer Proliferationsförderung der Erythropoese und einer Reifungshemmung und Regenerationsförderung der Granulopoese.

Diese unterschiedlichen Untersuchungsergebnisse lassen den Schluß zu, daß Sulfat eine Wirkung auf menschliches Knochenmark haben könnte.

FRAGESTELLUNG

Wie in der Einleitung dargestellt, zeigen in-vitro-Versuche, daß die Einwirkung von Corticosteroiden auf menschliche Knochenmarkkulturen eine sehr unterschiedliche Wirkung auf die Proliferation hat (8, 9, 14, 17, 20, 21, 23). Da sich diese Unterschiede trotz gleicher Konzentration von 0,25 $\mu\text{g/ml}$ bei Wirkungsäquivalenz der Corticoide ergaben, stellt sich die Frage nach der Wirkung des Sulfatrestes.

Deshalb soll in dieser Arbeit im Zusammenhang mit der oben dargestellten Reihenuntersuchung die Wirkung von Cyclohexanolsulfat auf menschliche Knochenmarkkulturen in vitro untersucht werden.

Das Cyclohexanol kann als weitgehend inert angesehen werden. Die Versuchsanordnung und Auswertmethode entsprach den vorausgegangenen Versuchen mit Corticoiden. Cyclohexanolsulfat wurde in der Dosierung von 0,1 $\mu\text{g/ml}$ Medium zugesetzt.

METHODE

Es wurden Knochenmarkkulturen von 6 Patienten nach der Technik von CARREL, die von BOLL, I. (3) modifiziert wurde, angelegt.

Unter sterilen Bedingungen wurde eine Mischung aus 5 Teilen Eigenplasma, 3 Teilen Eigenserum, 1 Teil Corhormon^R und 1 Teil Cyclohexanolsulfat¹⁾ (1,0 µg/ml) auf einen Objektträger gebracht, die in wenigen Minuten gerann. Darauf wurde ein Bröckchen Knochenmark gegeben. Anschließend wurde es mit einem Tröpfchen Serum bedeckt. Mit Vaseline wurde über dem Koagulum ein hohlgeschliffener Objektträger befestigt und nun die Kultur umgedreht. Daraufhin wurde die Kultur luftdicht verschlossen, indem der Rand mit Hartparaffin abgedichtet wurde. Dann wurde die Kultur in einem Brutschrank bei 37° Celsius inkubiert.

Es wurden ebenfalls Kontrollkulturen ohne Cyclohexanolsulfat angesetzt. Statt dessen wurden ihnen 4 Teile Eigenseum zugesetzt. Nach 24, 48 und 72 Stunden wurde von jeder der beiden Kulturreihen ein Ausstrich angefertigt und nach der PAPPENHEIMschen Methode gefärbt.

So ergaben sich mit dem Originalpunktatausstrich pro Patient 7 Stichproben.

Die Differenzierung erfolgte nach den Kriterien von BOLL, I. (5). Dabei wurden die Präparate unter besonderer Berücksichtigung der aufgelockerten Randbezirke mäanderförmig durchmustert. Pro Ausstrich wurden möglichst 2000 Zellen ausgezählt, so daß das Ergebnis auf ca. 84000 Zellen beruht. Zusätzlich wurde noch die Phase und Zahl der in Mitose befindlichen Zellen festgehalten.

Folgendermaßen wurde das Zählergebnis ausgewertet:

1. Aus der graphischen Darstellung der Reifungskurven wird der prozentuale Anteil der einzelnen Reifestadien von Erythro-

1) Die Lösung mit Cyclohexanolsulfat stellte freundlicherweise die Firma Schering, Berlin, zur Verfügung.

und Granulopoese in bezug auf die Kulturdauer ersichtlich.

2. Der G/E-Index ergibt sich aus dem Quotienten der Anzahl aller granulopoetischen und der Anzahl aller erythropoetischen Zellen.
3. Der Mitoseindex ergibt sich aus dem Verhältnis der sich in Mitose befindlichen Zellen zur Gesamtzahl aller teilungsfähigen Zellen. Für die rote und weiße Reihe getrennt berechnet, stellt sich das Ergebnis in Promille dar.
4. In der karyologischen Kurve wird die prozentuale Verteilung der Mitosephasen dargestellt.
5. Die Entwicklung der Lymphocyten, der großen und der kleinen Retikulumzellen wird in Abhängigkeit von der Gesamtzellzahl und der Kulturdauer dargestellt.

SIGNIFIKANZBERECHNUNG

Mit Hilfe des χ^2 -Testes geschah die statistische Auswertung. Damit soll entschieden werden, ob die Unterschiede zwischen den Kontroll- und den Cyclohexanolsulfatkulturen, die aus dem gleichen Ausgangsmaterial hergestellt waren, zu den festgelegten Zeitpunkten als zufällig angesehen werden müssen, oder ob sie im Sinne der Statistik signifikant sind. Nähere Erläuterungen zum χ^2 -Test finden sich bei BELITZ, H.-J. (1), CAVALLI-SFOZA, L. (7) und FUCHS, G. (12). Dieser Test wurde bei bestimmten Ergebnissen der Erythro- und der Granulopoese angewandt.

Die χ^2 -Werte wurden mit einschlägigen Tabellen verglichen, aus denen in einer logarithmischen Tabelle die zu den χ^2 -Werten mit den zugehörigen Freiheitsgraden passenden Wahrscheinlichkeitswerte p abgelesen werden.

In dieser Arbeit gelten alle p-Werte, die kleiner als 0,01 sind als nicht zufallsbedingt.

Herrn Professor Dr. H.-J. Belitz vom Institut für Genetik der Freien Universität Berlin bin ich für die Beratung bei der Auswertung der Ergebnisse auf ihre Signifikanz zu Dank verpflichtet.

Beispiel für die Signifikanzberechnung

Fall 1, Erythropoese 24^h

Zelltyp	Kontrolle	Zusatz	Kontrolle + Zusatz	p
PE	21	11	32	0,034
bE	27	33	60	0,064
pE	185	153	338	0,363
oE	23	37	60	0,064
rE	149	293	442	0,474
	$n_1 = 405$	$n_2 = 527$	$n_{\text{ges}} = 932$	1,000

Zelltyp	$E_{\text{Kontrolle}}$	E_{Zusatz}	$\frac{(B-E)^2}{E_{\text{Kontrolle}}}$	$\frac{(B-E)^2}{E_{\text{Zusatz}}}$
PE	13,77	17,92	3,796	2,672
bE	25,92	33,73	0,045	0,016
pE	147,02	191,30	9,799	7,668
oE	25,92	33,73	0,329	0,317
rE	191,97	249,80	9,618	7,471
	$n_1 = 405$	$n_2 = 527$	$\chi^2_4 = 23,587$	$\chi^2_4 = 18,144$

$$\chi^2 = \sum \frac{(B-E)^2}{E} \quad \frac{(B-E)^2}{E_{\text{ges}}}$$

PE	6,468
bE	0,061
pE	17,467
oE	0,646
rE	17,089

$$\chi^2_4 = 41,731$$

$$p < 10^{-3} \quad (\text{signifikant})$$

=====

E = Erwartungswert = $p \cdot n$

B = Beobachtungswert = Kontrolle

p = Wahrscheinlichkeitswert = $\frac{\text{Kontrolle} + \text{Zusatz}}{n_{\text{ges}}}$

MW = Mittelwert

Fall	Kontrollen				Zusatz		
	0 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
I	3,8	2,7	3,3	3,4	3,3	2,4	2,1
II	2,3	2,4	2,3	1,8	2,7	2,7	2,7
III	3,5	3,6	2,9	2,6	2,2	2,8	3,0
IV	3,9	3,0	3,4	3,0	2,9	3,6	2,9
V	3,7	2,9	2,7	2,7	2,6	3,0	3,4
VI	3,9	3,2	3,9	3,5	3,8	3,8	3,4
Summe	21,1	17,8	18,5	17,1	17,5	19,0	17,5
MW	3,5	3,0	3,1	2,9	2,9	3,2	2,9

Tab. 1: G/E - Indices

Fall	Kontrollen				Zusatz		
	0 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
I	27,1	31,3	17,2	0	34,2	15,6	0
II	17,1	10,8	8,4	0	18,7	8,4	0
III	21,9	19,5	17,3	0	16,9	11,7	0
IV	14,3	13,4	14,8	0	19,1	16,9	0
V	22,9	24,6	14,7	0	11,6	25,6	0
VI	22,6	24,7	27,0	0	25,3	26,6	0
Summe	125,9	124,3	99,4	0	125,8	104,8	0
MW	21,0	20,7	16,6	0	21,0	17,5	0

Tab. 2: Mitoseindices der Erythropoese in ‰

Fall	Kontrollen				Zusatz		
	0 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
I	11,9	14,1	11,5	9,1	20,8	13,0	11,3
II	16,3	14,6	10,0	10,2	22,7	14,6	11,1
III	19,1	23,0	12,0	6,1	26,6	18,7	3,0
IV	17,9	18,5	21,1	16,0	20,9	15,7	6,2
V	21,3	23,5	21,5	6,9	20,2	10,3	10,1
VI	17,6	23,0	27,3	16,8	28,6	25,8	9,4
Summe	104,1	116,7	103,4	55,1	139,8	98,1	51,1
MW	17,4	19,5	17,2	9,2	23,3	16,4	8,5

Tab. 3: Mitoseindices der Granulopoese in ‰

Erläuterungen zu den Abbildungen I - X

Abszisse: Auf dem linken Teil der Abszisse wurde der Anteil der verschiedenen Reifestadien der Erythropoese in Prozent additiv aufgetragen. Entsprechendes gilt für die Granulopoese auf dem rechten Teil der graphischen Darstellungen.

Ordinate: Auf den Ordinaten wurden 24, 48 und 72 Stunden Kulturdauer aufgetragen.

Bedeutung der Abkürzungen:

a) Erythropoese:

PE	= Proerythroblasten
bE	= basophile Erythroblasten
pE	= polychromatische Erythroblasten
oE	= oxyphile Erythroblasten
rE	= reife Erythroblasten

b) Granulopoese:

Mb	= Myeloblasten
Prom	= Promyelocyten
Myel	= neutrophile Myelocyten
eM	= eosinephile Myelocyten
bM	= basophile Myelocyten
PM	= Promonocyten
Meta	= Metamyelocyten
St	= Stabkernige
Seg	= neutrophile Segmentkernige
eS	= eosinophile Segmentkernige
Mon	= Monocyten

c) sonstige:

K = ———	= Kontrollkultur
S = -----	= Cyclohexanolsulfatkultur
rM	= roter Mitoseindex
wM	= weißer Mitoseindex

Zellarten unter 1 % wurden nicht einzeln aufgetragen.

ERGEBNISSE

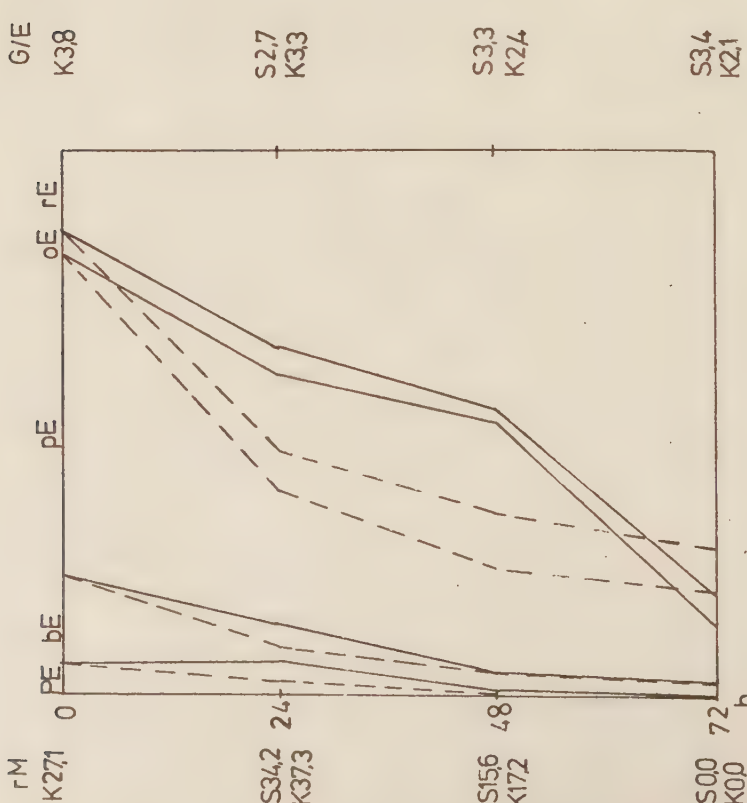
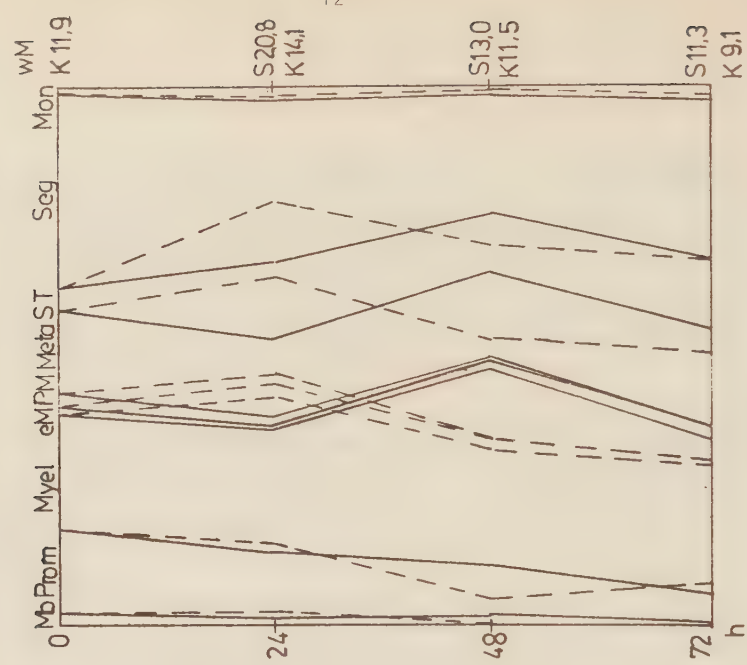
Fall I: Knochenmark des Patienten W. P., 60 Jahre

normaler Knochenmarkbefund

Klinische Diagnose: Schädelhirntrauma Grad II mit
Schädelfraktur links, Pneumonie,
chronischer Alkoholabus

Therapie zur Zeit der Sternalpunktion: 0,24 g Euphyllin^R i. v.,
4 x 4 mg Fortecortin^R i. v.,
3 x 0,1 mg Lanitop^R p. o.,
0,5 g Distraneurin^R p. o. bei Bedarf

Blutbild vom Tage der Sternalpunktion: HK = 40 %, Hb = 14,2 %, Hb_E = 35,6 pg,
Erythrocyten = 3,98 Mill./ml,
Leukocyten = 9600/ml
Metamyelocyten = 1 %, Stabkernige = 8 %,
Segmentkernige = 77 %,
Lymphocyten = 6 %,
Monocyten = 8 %



GRANULOPOEISE
ERYTHROPOEISE
Fall I Abb. 1

1. Reifungskurve der Erythropoese (Abb. 1)

Nach 24 Stunden fällt eine Linksverschiebung für alle Reifungsstadien im Präparat mit Cyclohexanolsulfatzusatz im Vergleich zum Kontrollpräparat auf. Nach 48 Stunden ist diese Linksverschiebung nur noch bei den oxyphilen und reifen Erythroblasten zu sehen. Im Zusatzpräparat finden sich nach 72 Stunden weniger reife Erythroblasten als im Kontrollpräparat.

2. Reifungskurve der Granulopoese (Abb. 1)

Eine Rechtsverschiebung der Zusatzkultur tritt nach 24 Stunden auf, die aber nach 48 Stunden in eine Linksverschiebung umschlägt. Auch nach 72 Stunden bleibt die Linksverschiebung bestehen, wenn sie auch nicht mehr so ausgeprägt ist.

3. G/E - Indices (Tab. 1)

Während der G/E - Index des Sulfatpräparates nach 24 Stunden niedriger liegt als im Kontrollpräparat, finden sich nach 48 und 72 Stunden höhere Indices des Zusatzpräparates.

4. Mitoseindices (Tab. 2, 3)

Die Mitoseindices der roten Reihe steigen im Kontroll- und im Zusatzpräparat nach 24 Stunden etwa in gleichem Maße an, fallen nach 48 Stunden ab und sind nach 72 Stunden bei 0%.

Der weiße Mitoseindex des Sulfatpräparates liegt nach 24, 48 und 72 Stunden über dem des Kontrollpräparates.

Fall I: χ^2 - Test

1. Erythropoese

Zelltyp	Kontrolle	Zusatz	$(B-E)^2/E$	Zeit u. Ergebnis
PE	21	11	3,6375 2,7700	24 h
bE	27	33	0,0352 0,0231	p < 10 ⁻³
pE	185	153	9,9091 7,5925	
oE	23	37	0,3552 0,2861	signifikant
rE	149	293	9,6505 7,4321	
	405	527	$41,731 = \chi^2_4$	

PE	3	2	0,0516 0,0379	
bE	14	13	0,0114 0,0150	48 h
pE	183	75	14,8495 16,9738	$p < 10^{-3}$
oE	33	38	0,6359 0,7365	
rE	213	261	6,3677 7,3204	signifikant
	446	389	$55,041 = \chi^2_4$	

Tab. 4

2. Granulopoese

Zelltyp	Kontrolle	Zusatz	(B-E) ² /E	Zeit u. Ergebnis
Mb	19	31	1,1039 1,1155	24 h p < 10 ⁻³ signifikant
Prom	161	181	0,1378 0,1436	
Myel	306	386	2,6124 2,4854	
eM	18	35	2,2815 2,2191	
bM + PM	12	23	1,4083 1,4449	
Meta	191	255	2,9526 2,8177	
St	189	204	0,0137 0,0136	
Seg	412	281	17,1150 16,1097	
Mon	41	33	0,7631 0,6516	
	1350	1433	55,3894 = χ^2_8	

Mb	18	5	6,1275 4,7554	48 h $p < 10^{-3}$ signifikant
Prom	98	58	12,3721 9,6843	
Myel	393	356	11,7617 9,2330	
eM	15	21	0,0437 0,0478	
bM + PM	5	5	0,0773 0,0611	
Meta	169	243	0,9155 0,7299	
St	119	216	5,6372 4,4964	
Seg	239	381	4,4167 3,4937	
Mon	19	14	1,3684 1,0467	
	1077	1362	76,2684 = χ^2_8	

Tab. 5

Fall II: Knochenmark des Patienten V. R., 71 Jahre

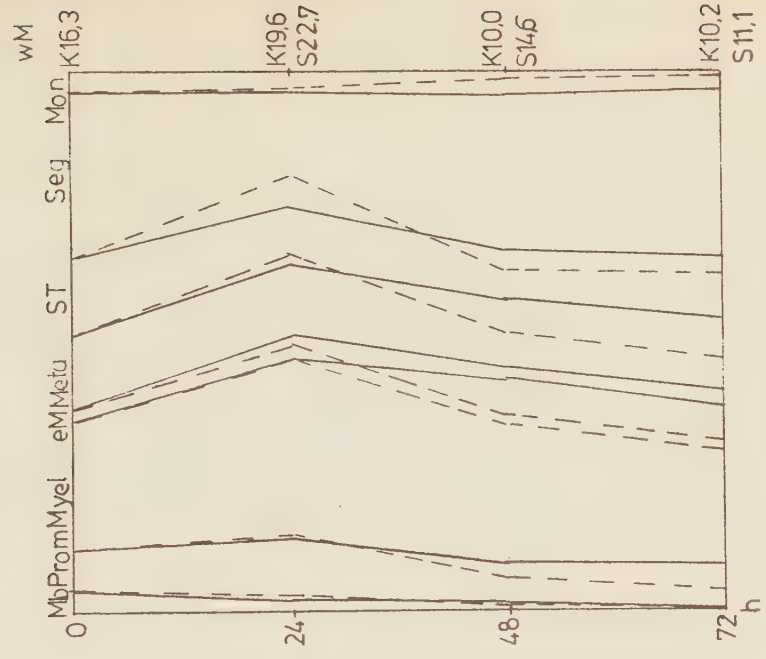
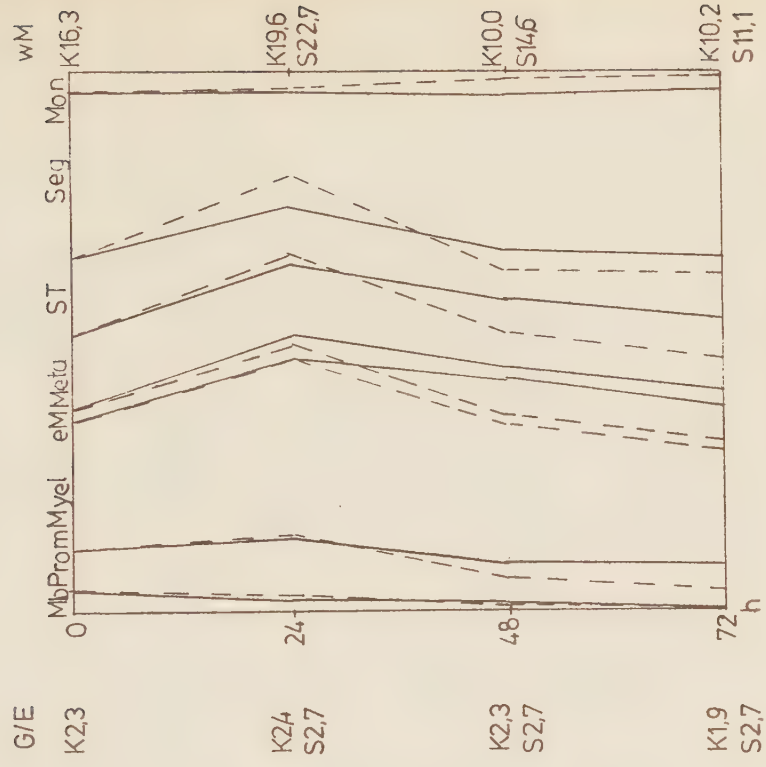
Angeregte Erythropoese mit zahlreichen
Megaloblasten

Klinische Diagnose: Hinterwandinfarkt, cerebrale Ischämie,
ungeklärte erhöhte BSG

Therapie zur Zeit der
Sternalpunktion: 2 x 0,1 mg Lanitop^R p. o.

Blutbild zur Zeit
der Sternalpunktion: HK = 29,9 %, Hb = 9,6 %, Hb_E = 29,6 pg,
Erythrocyten = 3,24 Mill./ml,
Leukocyten = 5400/ml,
Metamyelocyten = 1 %,
Stabkernige = 11 %, Segmentkernige = 60 %,
Lymphocyten = 19 %, Monocyten = 9 %

BSG: 78/107



ERYTHROPOEISE

GRANULOPOEISE

Fall III Abb. 2

1. Reifungskurve der Erythropoese (Abb. 2)

Die Kurven der Cyclohexanolsulfatkultur zeigen nach 24 und 48 Stunden eine Linksverschiebung. Nach 72 Stunden sind die Kurven annähernd deckungsgleich.

2. Reifungskurve der Granulopoese (Abb. 2)

Nach 24 Stunden findet sich eine Rechtsverschiebung der Kurven des Zusatzpräparates. Eine Linksverschiebung findet sich erst nach 48 und 72 Stunden.

3. G/E - Index (Tab. 1)

Aus den Sulfatkulturen ergab sich zu allen Zeitpunkten ein höherer G/E - Index.

4. Mitoseindices (Tab. 2, 3)

Der rote Mitoseindex ist nach 24 Stunden in der Zusatzkultur höher, nach 48 Stunden niedriger als der Index der Kontrollkultur. Nach 72 Stunden fanden sich in beiden Kulturen keine Mitosen.

Der weiße Mitoseindex der Cyclohexanolsulfatkultur liegt zu allen Zeitpunkten höher als der Index der Kontrollkulturen.

Fall II: χ^2 - Test

1. Erythropoese

Zelltyp	Kontrolle	Zusatz	$(B-E)^2/E$	Zeit u. Ergebnis
PE	23	7	4,4255 4,2952	24 h $p < 10^{-3}$ signifikant
bE	43	34	0,5874 0,5597	
pE	202	189	0,2917 0,2833	
oE	10	37	7,6532 7,5870	
rE	210	226	0,2174 0,2179	
	488	493	$26,1183 = \chi^2_4$	

PE	17	3	4,1368 4,4987	48 h $p < 10^{-3}$
bE	39	21	1,8981 2,0523	
pE	165	97	5,8582 6,3705	
oE	17	23	0,7149 0,7900	
rE	311	359	4,2625 4,6732	
	549	503	$35,2552 = \chi^2_4$	

Tab. 6

2. Granulopoese

Zelltyp	Kontrolle	Zusatz	(B-E) ² /E	Zeit u. Ergebnis
Mb	23	36	0,7833 0,7294	24 h p < 10 ⁻³ signifikant
Prom	135	144	0,1220 0,1041	
Myel	396	441	0,0228 0,0137	
eM + bM	37	26	1,8716 1,6319	
PM	6	10	0,3034 0,2725	
Meta	159	224	2,4221 2,1482	
St	128	199	4,2451 3,7906	
Seg	259	225	4,4166 3,9105	
Mon	49	41	1,0968 0,9276	
	1192	1346	28,8158 = χ^2_8	

Mb	18	14	0,4617 0,4190	48 h p < 10 ⁻⁵ signifikant
Prom	85	69	1,6838 1,5426	
Myel	420	371	4,3473 4,0031	
eM	27	24	0,2840 0,2247	
Meta	153	203	1,8365 1,7116	
St	111	155	2,1437 2,0011	
Seg	368	481	3,7547 3,5055	
Mon	55	25	7,2319 6,6253	
	1237	1342	41,7765 = χ^2_8	

Zelltyp	Kontrolle	Zusatz	$(B-E)^2/E$	Zeit u. Ergebnis
Mb	8	7	0,4596 0,0719	72 h
Prom	85	46	15,2769 7,4617	
Myel	325	352	4,6434 0,0205	$p < 10^{-6}$
eM	36	26	3,4827 1,2928	
Meta	143	202	0,1069 2,4990	signifikant
St	129	202	1,0209 4,7141	
Seg	341	503	0,9587 8,3541	
eS	9	3	3,0184 1,6910	
Mon	36	16	8,7425 4,5986	
	1112	1357	186,7188 = χ^2_8	

Tab. 7

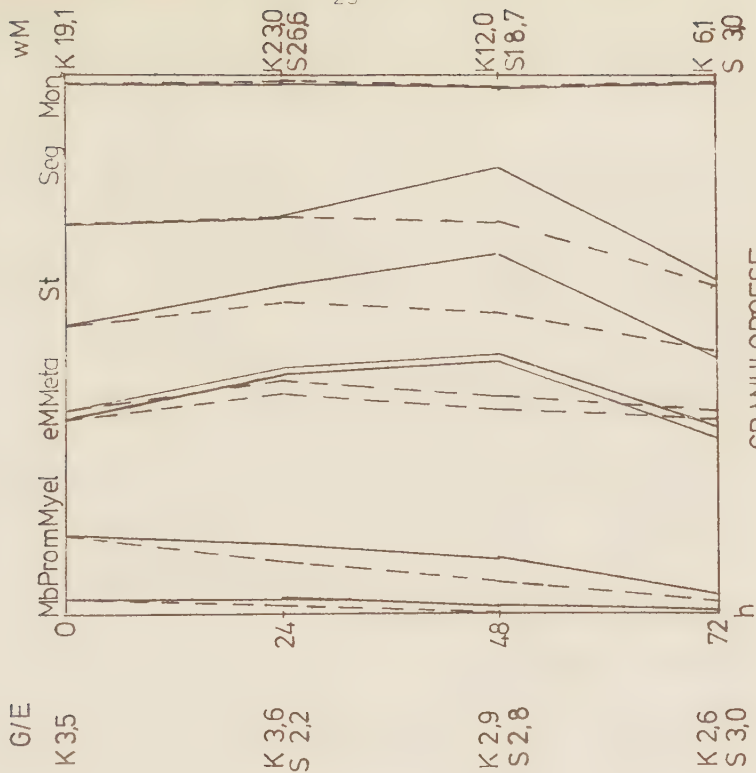
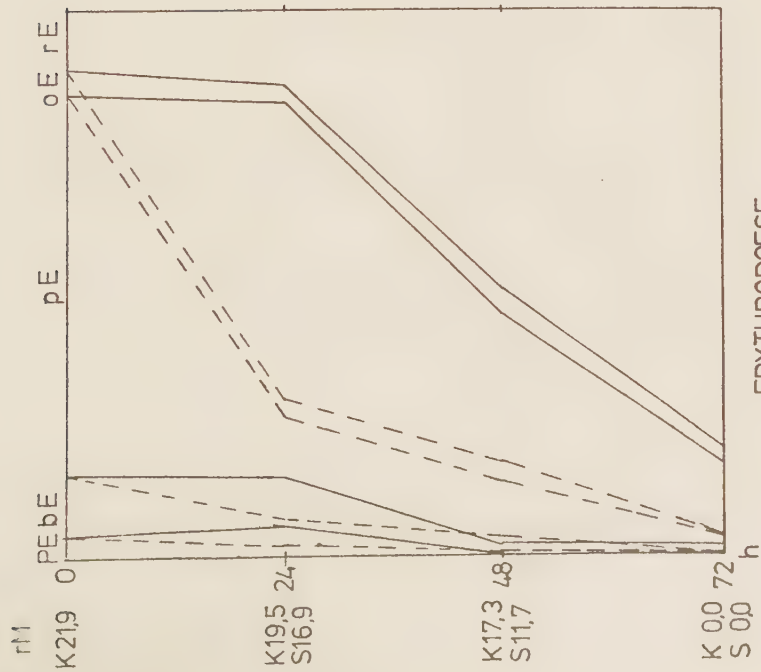
Fall III: Knochenmark des Patienten K. M., 22 Jahre

Morbus Hodgkin, sekundäre Tumorzeichen

Klinische Diagnose: Morbus Hodgkin Stadium Ia

Therapie am Tage der
Sternalpunktion: 10 mg Valium^R p. o.

Blutbild zur Zeit
der Sternalpunktion: HK = 42,4 %, Hb = 14,9 %, Hb_E3 = 29,9 pg,
Erythrocyten = 4,98 Mill/ml,
Leukocyten = 8700/ml,
Thrombocyten = 182 000/ml,
Eosinophile = 2 %, Stabkernige = 11 %,
Segmentkernige = 71 %, Lymphocyten = 13 %,
Monocyten = 3 %



1. Reifungskurve der Erythropoese (Abb. 3)

Es fällt eine signifikante Linksverschiebung der Cyclohexanol-sulfatkulturkurve in allen Reifungsstadien zu allen drei Zeitpunkten gegenüber der Kontrollkultur auf.

2. Reifungskurve der Granulopoese (Abb. 3)

Nach 24 Stunden findet sich eine geringfügige Linksverschiebung unreifer Vorstufen, während nach 48 Stunden eine allgemein signifikante Linksverschiebung der Zusatzkultur gegenüber der Kurve der Kontrolle auftritt. Nach 72 Stunden sind die Vergleichskurven annähernd deckungsgleich.

3. G/E - Indices (Tab. 1)

Die G/E - Indices der Sulfatkultur liegen nach 24 und 48 Stunden niedriger, nach 72 Stunden höher als in den Kontrollkulturen.

4. Mitoseindices (Tab. 2, 3)

Die Mitoseindices der Erythropoese in der Zusatzkultur liegen nach 24 und 48 Stunden niedriger als in der Kontrollkultur. Nach 72 Stunden finden sich in beiden Versuchsreihen keine Mitosen.

Die Mitoseindices der Granulopoese liegen nach 24 und 48 Stunden in der Zusatzkultur höher, nach 72 Stunden niedriger als in der Kontrollkultur.

Fall III: χ^2 - Test

1. Erythropoese

Zelltyp	Kontrolle	Zusatz	$(B-E)^2/E$	Zeit u. Ergebnis
PE	17	8	4,2381 2,9704	24 h $p < 10^{-6}$ signifikant
DE	26	20	2,4911 1,7510	
pE	204	79	63,4361 45,1167	
OE	10	11	8,7016 0,1246	
RE	41	301	71,9445 51,2316	
	298	419	$243,4978 = \chi^2_4$	

PE	1	4	0,5719 0,4147	48 h $p < 10^{-4}$ signifikant
bE	6	14	0,6749 0,4914	
pE	149	49	52,5631 37,8622	
oE	17	18	0,3729 0,2647	
rE	182	406	17,0283 12,3173	
	355	492	124,8924 = χ^2_4	

pE	62	15	20,5902 17,2594	72 h
oE	15	4	4,6449 3,8782	p < 10 ⁻³ signifikant
rE	322	457	3,1013 2,6214	
	399	476	52,0854 = χ^2_2	

Tab. 8

2. Granulopoese

Zelltyp	Kontrolle	Zusatz	$(B-E)^2/E$	Zeit u. Ergebnis
Mb	12	10	0,6947	48 h $p < 10^{-3}$ signifikant
			0,4976	
Prom	89	68	6,8401	
			5,1042	
Myel	374	431	2,2027	
			1,6448	
eM + bM	12	28	1,5384	
			1,2486	
PM + Meta	179	213	0,6320	
			0,4710	
St	167	229	0,0685	
			0,0523	
Seg	169	354	13,9385	
			10,6020	
Mon	25	21	0,4185	
			0,2895	
	1026	1358	46,2434 = χ^2_7	

Tab. 9

Fall IV: Knochenmark des Patienten O. M., 64 Jahre

Stark vermehrte Megakaryopoese, beginnende Osteomyelosklerose, Megakaryocytenleukämie bzw. chronisch myelomegakaryocytaire Leukämie

Klinische Diagnose:

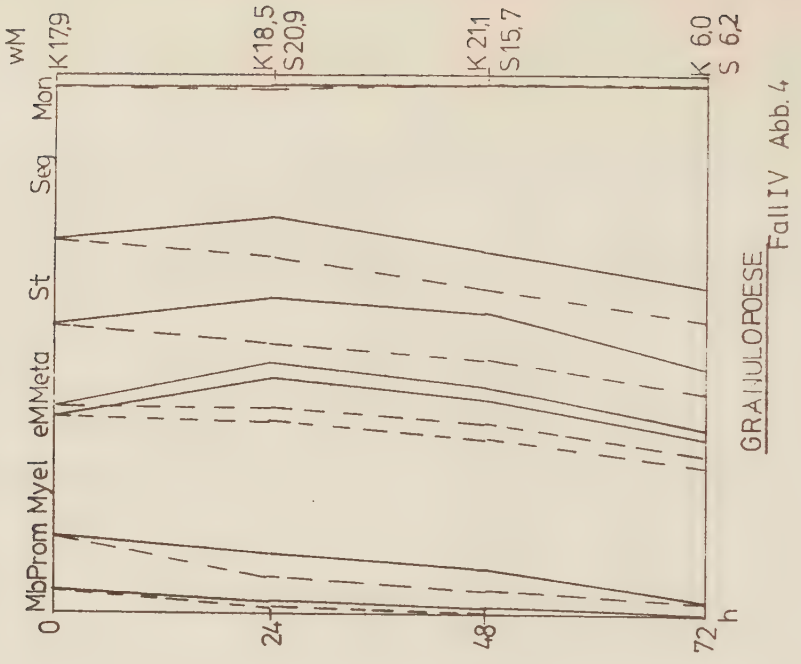
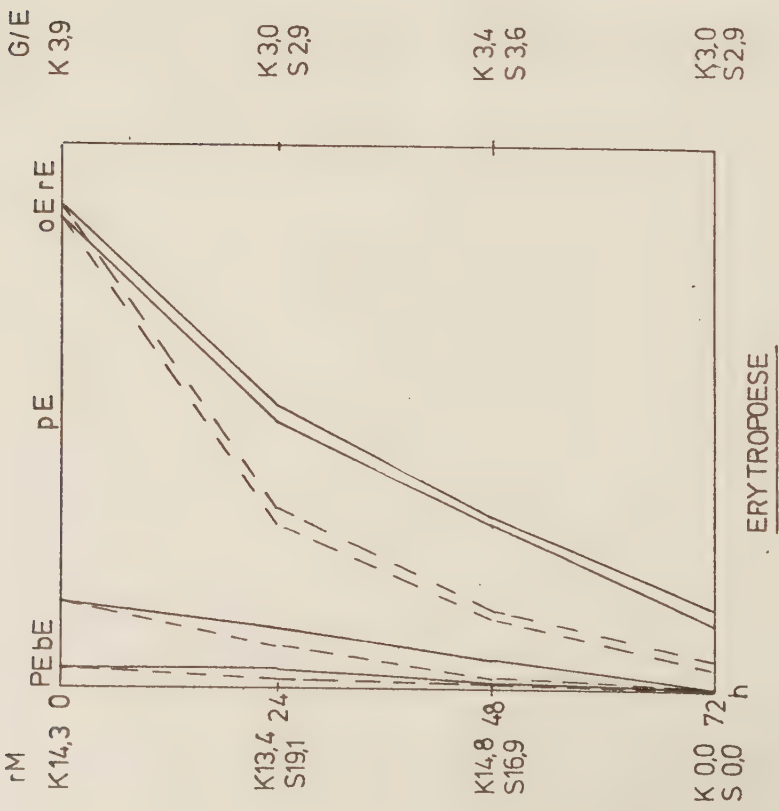
Ulcus ventriculi mit Blutung, Spondanpneumothorax, Verdacht auf Systemerkrankung, Diabetes mellitus

Therapie am Tage der
Sternalpunktion:

1 Tbl. Euglucon^R, 10 mg Valium^R p. o.,
2 x 0,125 mg Lanicor^R p. o.,
2 x 1 Tbl. Zyloric^R

Blutbild am Tage der
Sternalpunktion:

HK = 40,5 %, Hb = 12,5 %, Hb_E = 25,8 pg,
Erythrocyten = 4,82 Mill./ μ l,
Leukocyten = 18000/ μ l,
bas. Myelocyten = 6 %, eos. Myelocyten = 13 %, Metamyelocyten = 1 %, Stabkernige = 4 %, Segmentkernige = 58 %, Lymphocyten = 8 %, Monocyten = 10 %, Thrombocyten = 1530000/ μ l



1. Reifungskurve der Erythropoese (Abb. 4)

Es findet sich zu allen Zeiten eine Linksverschiebung des Cyclohexanolsulfatpräparates gegenüber dem Kontrollpräparat.

2. Reifungskurve der Granulopoese (Abb. 4)

Es findet sich zu allen Zeitpunkten eine Linksverschiebung des Zusatzpräparates gegenüber dem Kontrollpräparat.

3. G/E - Indices (Tab. 1)

Es finden sich in beiden Versuchsreihen zu allen Zeitpunkten annähernd gleiche G/E - Indices.

4. Mitoseindices (Tab. 2, 3)

In der Erythropoese findet sich nach 24 und 48 Stunden eine vermehrte Mitoseaktivität der Sulfatkultur, während nach 72 Stunden in beiden Versuchsreihen keine Mitosen auftraten.

In der Granulopoese treten in der Cyclohexanolsulfatkultur nach 24 Stunden vermehrt, nach 48 und 72 Stunden vermindert Mitosen im Vergleich mit der Kontrollkultur auf.

Fall IV: χ^2 - Test

1. Erythropoese

Zelltyp	Kontrolle	Zusatz	$(B-E)^2/E$	Zeit u. Ergebnis
PE	15	8	1,5646 1,4033	24 h $p < 10^{-3}$ signifikant
bE	32	29	0,3461 0,3096	
pE	163	109	9,2103 8,2378	
oE	14	11	0,4148 0,3495	
rE	211	329	7,6874 6,9111	
	435	485	$36,4345 = \chi^2_4$	

PE	5	3	0,2194 0,2213	48 h $p < 10^{-3}$ signifikant
bE	18	8	1,7503 1,7954	
pE	103	40	12,7396 13,1137	
oE	9	8	0,0162 0,0157	
rE	292	355	4,0447 4,1953	
	427	414	$38,1116 = \chi^2_4$	

Tab. 10

2. Granulopoese

Zelltyp	Kontrolle	Zusatz	$(B-E)^2/E$	Zeit u. Ergebnis
Mb	23	21	0,2324 0,1804	24 h $p < 10^{-3}$ signifikant
Prom	119	73	8,5544 7,7077	
Myel	421	406	2,0874 1,8814	
eM	37	44	0,0490 0,0528	
bM	6	11	0,5045 0,5103	
PM	4	8	0,4993 0,4609	
Meta	147	155	0,0964 0,0861	
St	189	228	0,3919 0,3626	
Seg	316	444	5,5156 4,9822	
eS	1	8	2,4981 2,2750	
Mon	29	33	0,0036 0,0082	
	1292	1431	38,9402 = χ^2_{10}	

Mb	19	12	0,8742 0,8538	48 h $p < 10^{-3}$ signifikant
Prom	101	53	8,1380 7,8466	
Myel	449	418	0,9290 0,9070	
eM	41	35	0,3311 0,2768	
bM	11	5	1,2992 1,1102	
Meta	185	176	0,2322 0,2151	
St	167	192	0,6265 0,6402	
Seg	448	555	4,7044 4,6218	
eS	7	8	0,0195 0,0289	
Mon	19	23	0,1385 0,1671	
	1447	1477	35,8943 = χ^2_9	

Fall V: Knochenmark der Patientin H. S., 64 Jahre

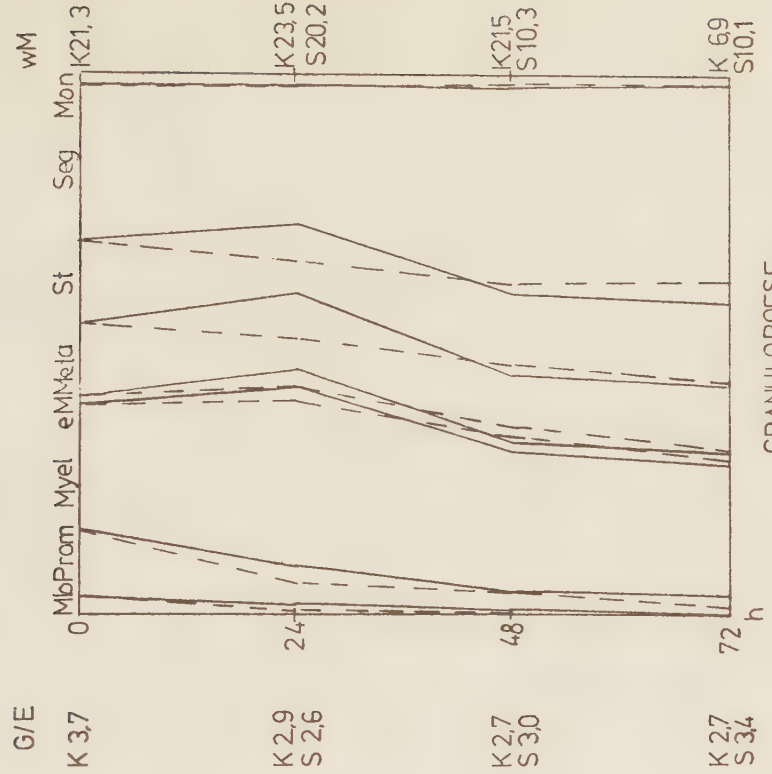
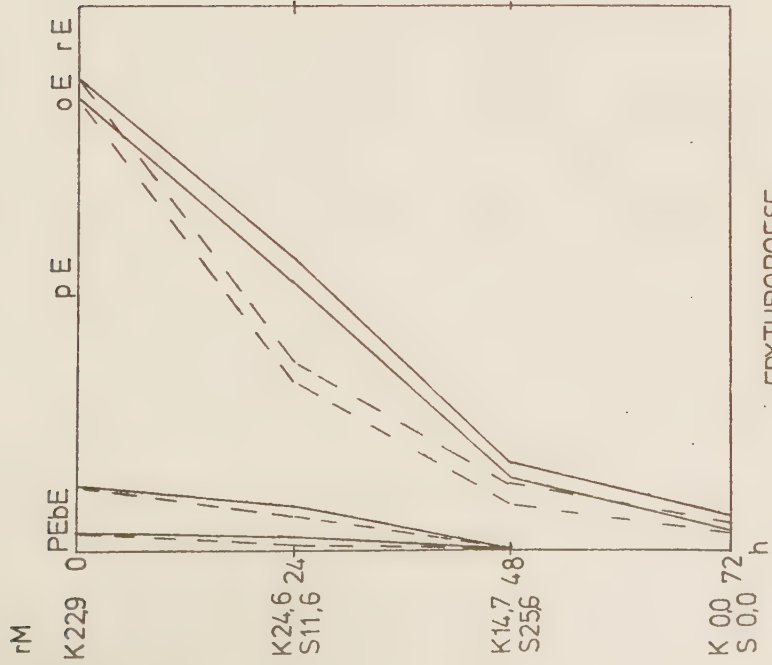
vermehrte Granulopoese, dringender
Verdacht auf beginnende chronisch
myeloische Leukämie

Klinische Diagnose: Verdacht auf beginnende hämatologische
Systemerkrankung (CML)

Therapie zur Zeit der Sternalpunktion: 2 x 2 Amp. Bisolvon^R, 2 x 1 Tbl.
Zyloric^R, 2 x 0,125 mg Lanicor^R p. o.,
2 x 2,0 g Binotal^R p. o.

Blutbild zur Zeit der Sternalpunktion: HK = 35,7 %, Hb = 11,6 %, Hb_E = 24,4 pg,
Erythrocyten = 4,72 Mill./ μ l,
Leukocyten = 55000/ μ l, Thrombocyten =
26000/ μ l, Myeloblasten = 4 %, Meta-
myelocyten = 4 %, Stabkernige = 5 %, Segmentkernige = 59 %, Lymphocyten =
2 %, Monocyten = 26 %

BSG: 35/63



1. Reifungskurve der Erythropoese (Abb. 5)

Nach 24 und 48 Stunden findet sich eine Linksverschiebung der Kurven der Cyclohexanolsulfatkultur gegenüber denen der Kontrollkultur, während nach 72 Stunden die Kurven sich annähernd gleichen.

2. Reifungskurve der Granulopoese (Abb. 5)

Nach 24 Stunden findet sich eine Linksverschiebung der Kurven der Sulfatkultur. Nach 48 und 72 Stunden gleichen sich die Kurven von Zusatz- und Kontrollkultur annähernd.

3. G/E - Indices (Tab. 1)

Nach 24 Stunden liegt der G/E - Index der Sulfatkultur niedriger, nach 48 und 72 Stunden höher als der der Kontrollkultur.

4. Mitoseindices (Tab. 2, 3)

Der rote Mitoseindex der Cyclohexanolsulfatkultur liegt nach 24 Stunden niedriger, nach 48 Stunden höher als der der Kontrollkultur. Nach 72 Stunden fanden sich in beiden Reihen keine Mitosen.

Der weiße Mitoseindex der Zusatzkultur liegt nach 24 und 48 Stunden unter, nach 72 Stunden über dem der Kontrollkultur.

Fall V: χ^2 - Test

1. Erythropoese

Zelltyp	Kontrolle	Zusatz	$(B-E)^2/E$	Zeit u. Ergebnis
PE	12	8	0,6016 0,5432 0,0440	24 h
bE	26	25	0,0350	
pE	185	119	10,3832 9,5757	$p < 10^{-3}$ signifikant
oE	21	20	0,0862 0,0783	
rE	213	321	7,4099 6,8592	
			35,6163 = χ^2_4	

bE	3	0	1,6509 1,5096	48 h
pE	54	39	1,5631 1,4804	
oE	11	14	0,1285 0,1240	$p < 10^{-2}$ signifikant
rE	359	391	0,2033 0,1987	
			6,8585 = χ^2_3	

Tab. 12

2. Granulopoese

Zelltyp	Kontrolle	Zusatz	(B-E) ² /E	Zeit u. Ergebnis
Mb	22	14	0,8216	24 h p < 10 ⁻³ signifikant
			0,7456	
Prom	98	61	3,7954	
			3,7970	
Myel	427	426	0,0726	
			0,0761	
eM	29	24	0,1888	
			0,1529	
bM	8	4	0,6643	
			0,5758	
PM	3	2	0,1091	
			0,0694	
Meta	179	114	6,2602	
			6,3617	
St	166	179	0,4499	
			0,4860	
Seg	342	417	4,7698	
			4,9601	
eS	5	1	1,3306	
			1,2592	
Mon	26	26	0,0049	
			0,0058	
	1305	1268	50,9471 = χ^2_{10}	

Tab. 13

Fall VI: Knochenmark der Patientin E. M., 57 Jahre

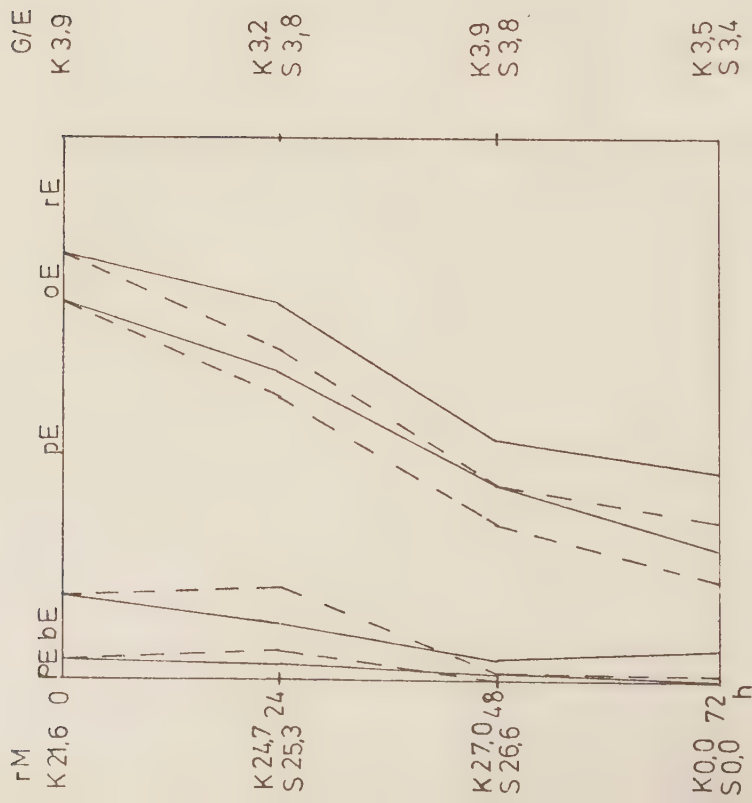
Eosinophilie unklarer Genese

Klinische Diagnose: Verdacht auf Endocarditis Löffler

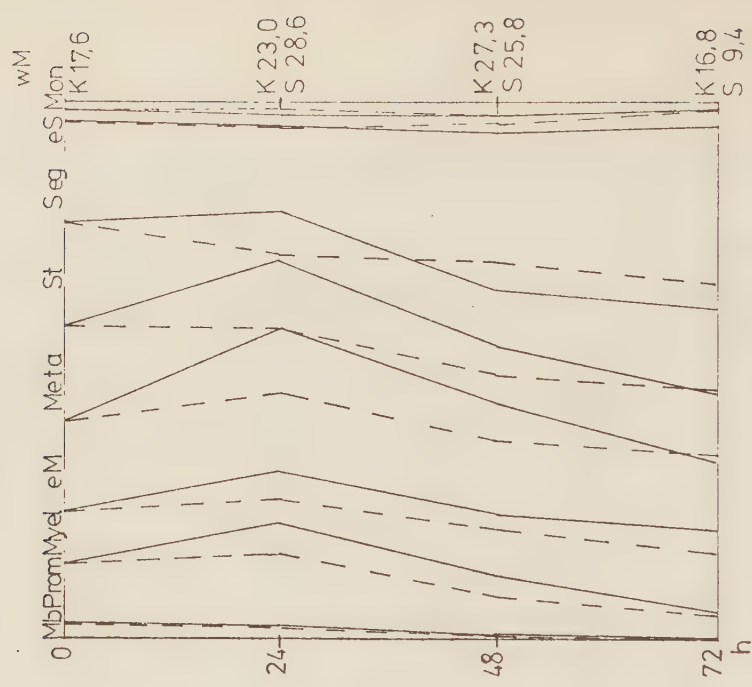
Therapie am Tage der
Sternalpunktion: 0,2 mg Novodigal^R p. o.,
3 x 2 Tbl. Beromycin Mega^R

Blutbild am Tage der
Sternalpunktion: HK = 40,0 %, Hb = 13,4 %, Hb_E = 29,9 pg,
Erythrocyten = 4,5 Mill./ml,
Leukocyten = 7000/ml, Eosinophile = 19 %,
Basophile = 2 %, Stabkernige = 3 %,
Segmentkernige = 50 %,
Lymphocyten = 19 %, Monocyten = 7 %

BSG: 17/45



ERYTHROPOESE



GRANULOPOESE

Fall VI Abb. 6

1. Reifungskurve der Erythropoese (Abb. 6)

Es findet sich zu allen Zeitpunkten eine Linksverschiebung der Kurven der Zusatzkultur gegenüber denen der Kontrollkultur.

2. Reifungskurve der Granulopoese (Abb. 6)

Nach 24 Stunden findet sich eine Linksverschiebung der Kurven der Cyclohexanolsulfatkultur.

Nach 48 Stunden sind die unreifen Formen weiterhin linksverschoben, während die Segmentkernigen der Sulfatkultur im Verhältnis zur Kontrollkultur vermindert auftreten. Nach 72 Stunden sind die Kurven unreifer Vorstufen annähernd deckungsgleich. Die Segmentkernigen sind weiterhin vermindert.

3. G/E - Index (Tab. 1)

Der G/E - Index der Sulfatkultur ist nach 24 Stunden höher als der der Kontrollkultur. Nach 48 und 72 Stunden sind die G/E - Indices annähernd gleich in beiden Kulturreihen.

4. Mitoseindices (Tab. 2, 3)

Der rote Mitoseindex der beiden Kulturen ist zu allen Zeitpunkten annähernd gleich. Nach 72 Stunden treten keine Mitosen auf,

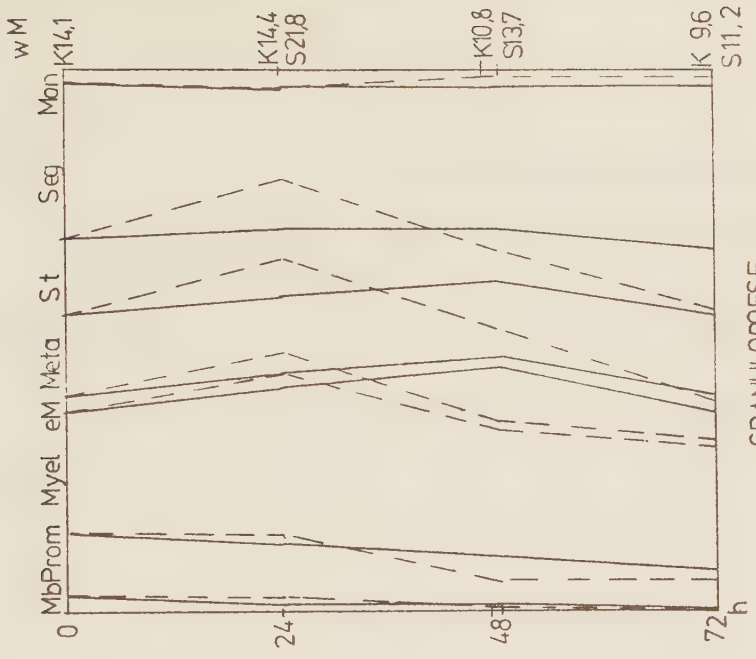
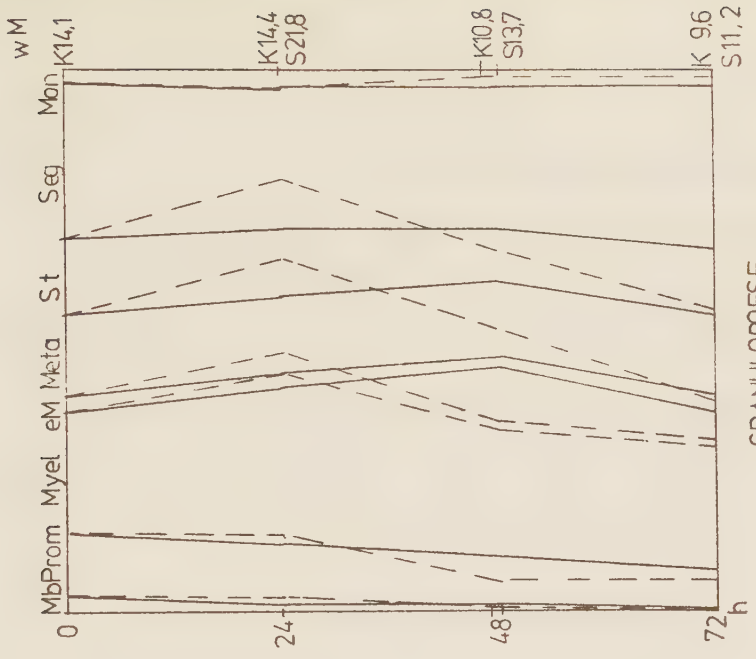
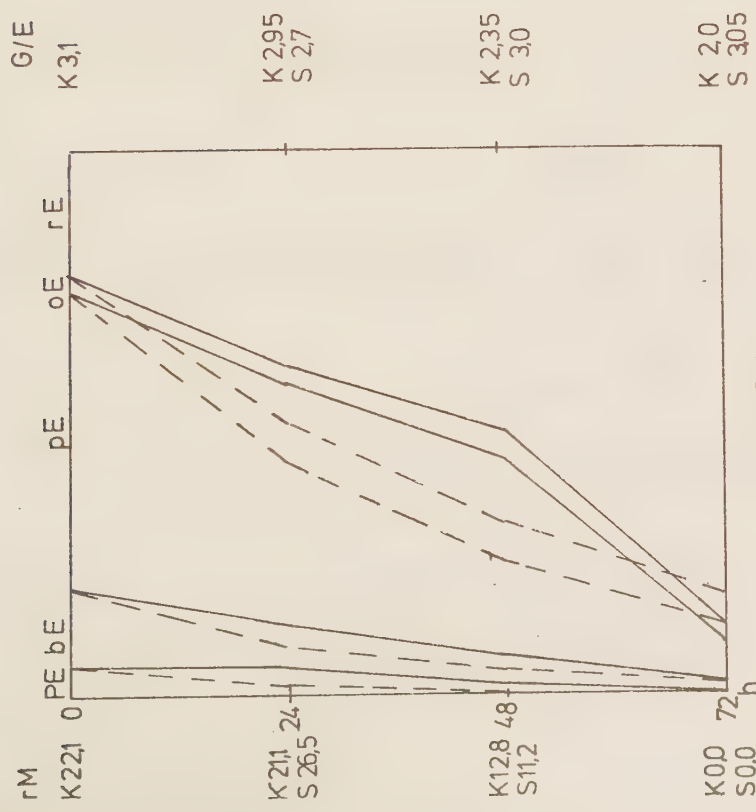
Die weißen Mitoseindices sind in der Zusatzkultur nach 24 Stunden höher, nach 48 und 72 Stunden dagegen niedriger als die der Kontrollkulturen.

Fall VI: χ^2 - Test

1. Erythropoese

Zelltyp	Kontrolle	Zusatz	$(B-E)^2/E$	Zeit u. Ergebnis
PE	12	20	1,7927 2,2510	24·h $p < 10^{-2}$ signifikant
bE	31	37	1,1183 1,4046	
pE	189	153	0,0007 0,0006	
oE	51	27	1,4902 1,8071	
rE	123	93	0,1263 0,1508	
	406	330	$10,4009 = \chi^2_4$	

Tab. 14



ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE

Zusammenfassung der Versuche I und II (Abb. 7)

Die Ergebnisse der Versuche der beiden Patienten ohne hämatologische Systemerkrankung werden in dieser Darstellung zusammengefaßt.

1. Reifungskurve der Erythropoese (Abb. 7)

Nach 24 und 48 Stunden findet sich eine Linksverschiebung der Zusatzkultur. Nach 72 Stunden verlaufen die Vergleichskurven annähernd deckungsgleich.

2. Reifungskurve der Granulopoese (Abb. 7)

Nach 24 Stunden findet sich eine Rechtsverschiebung der Cyclohexanolsulfatkultur. Nach 48 und 72 Stunden dagegen findet sich eine Linksverschiebung. Somit ist durch das Sulfat die Reifung deutlich stimuliert.

3. G/E - Index (Tab. 15)

Während der G/E - Index der Sulfatkultur nach 24 Stunden etwas niedriger liegt, ist er nach 48 und 72 Stunden höher als in der Kontrollkultur.

4. Mitoseindices (Tab. 15)

In der roten Reihe liegt der Mitoseindex der Zusatzkultur nach 24 Stunden höher, nach 48 Stunden niedriger als der der Kontrollkultur. Nach 72 Stunden fanden sich keine Mitosen.

In der weißen Reihe liegt der Mitoseindex zu allen Zeitpunkten in der Cyclohexanolsulfatkultur höher als in der Kontrollkultur. Zusammen mit der Reifung ist in der Granulopoese die gesamte Proliferation stimuliert.

Mittelwerte der Zusammenfassung der Versuche I und II

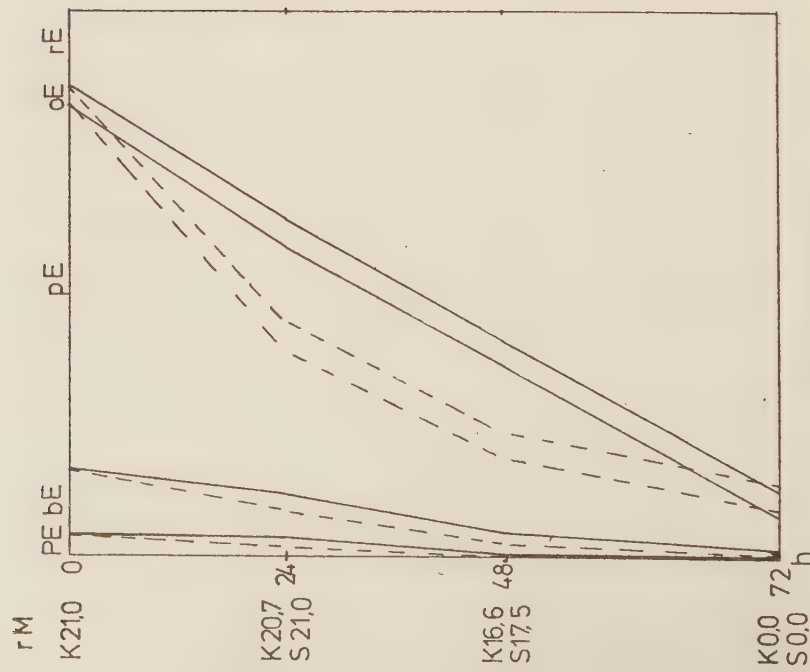
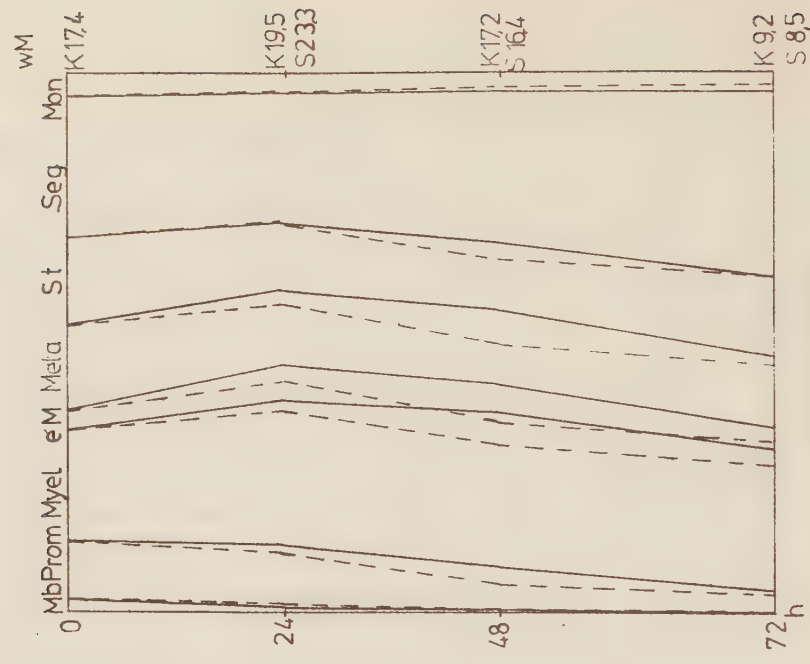
G/E = Mittelwerte der G/E - Indices

rM = Mittelwerte der roten Mitoseindices in ‰/oo

wM = Mittelwerte der weißen Mitoseindices in ‰/oo

	Kontrollen				Zusatz		
	0 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
G/E	3,1	2,95	2,35	2,0	2,7	3,0	3,05
r/M	22,1	21,1	12,8	0	26,5	11,2	0
wM	14,1	14,4	10,8	9,6	21,8	13,7	11,2

Tab. 15



Zusammenfassung der Versuche I bis VI (Abb. 8)

1. Reifungskurve der Erythropoese (Abb. 8)

Nach 24 und 48 Stunden findet sich eine hochgradige Linksverschiebung der Cyclohexanolsulfatkultur als Ausdruck einer Reifungsförderung. Nach 72 Stunden enden die Kurven annähernd deckungsgleich.

2. Reifungskurve der Granulopoese (Abb. 8)

Nach 24 und 48 Stunden findet sich eine deutliche Linksverschiebung der Zusatzkultur. Nach 72 Stunden verlaufen die Vergleichskurven annähernd deckungsgleich.

3. G/E - Index (Tab. 1)

Die G/E - Indices liegen zu allen Zeitpunkten in beiden Kulturansätzen annähernd gleich hoch. Sie sind im Vergleich zum Originalausstrich leicht abgefallen.

4. Mitoseindices (Tab. 2, 3)

Die Mitoseindices der Erythropoese beider Kulturansätze sind nach 24 Stunden auf der gleichen Höhe wie im Originalausstrich. Sie fallen nach 48 Stunden ab und liegen nach 72 Stunden bei 0%.

In der Granulopoese ist der Anstieg der Mitoserate nach 24 Stunden im Cyclohexanolsulfatpräparat größer, während der Abfall nach 48 und 72 Stunden in etwa dem des Kontrollpräparates entspricht.

Die karyologische Kurve

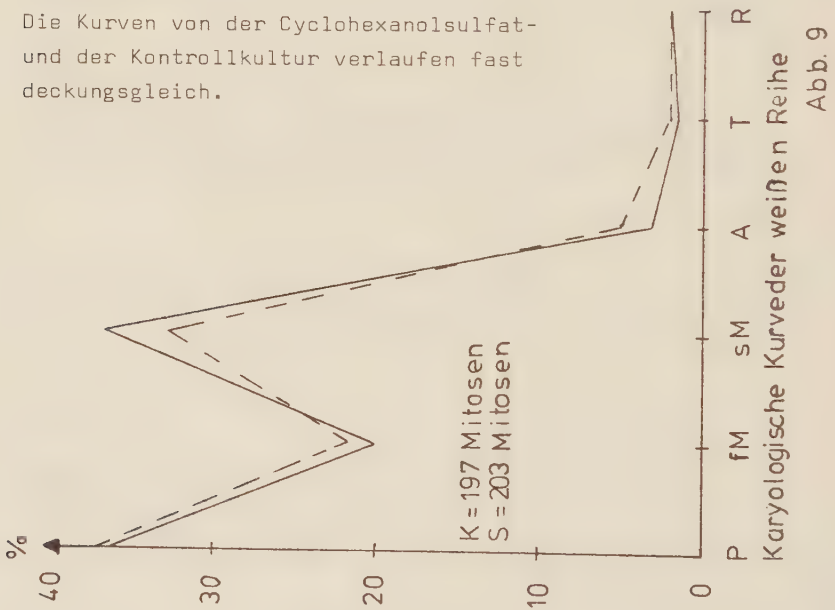
Es wurden alle Mitosen einbezogen außer denen der Originalpräparate, denn für sie gibt es keine Vergleichsmöglichkeit.

1. Erythropoese:

Wegen der geringen Mitosezahl haben wir auf eine Darstellung der karyologischen Kurve verzichtet.

2. Granulopoese (Abb. 9):

Die Kurven von der Cyclohexanolsulfat- und der Kontrollkultur verlaufen fast deckungsgleich.



Ordinate: Mitosephasen in %

Abszisse: die verschiedenen Mitosephasen

- P = Prophase
- fM = frühe Metaphase
- sM = späte Metaphase
- A = Anaphase
- T = Telophase
- R = Rekonstruktionsphase

Fall	Kontrollen				Zusatz		
	0 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
I	1,1	0,6	0,5	0,5	0,5	0,5	0,4
II	0,5	0,5	0,4	0,3	1,2	0,5	0,5
III	0,8	0,2	0,6	0,1	0,4	0,2	0
IV	0,5	0,5	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2
V	1,1	0,5	0,5	0,1	0,5	0,4	0,1
VI	0,9	1,6	0,6	0,8	0,8	0,7	0,2
Summe	4,9	3,9	2,7	2,0	3,6	2,4	1,4
MW	0,8	0,7	0,5	0,3	0,6	0,4	0,2

Tab. 16: Anzahl der großen Retikulumzellen in % der Gesamtzellzahl

Fall	Kontrollen				Zusatz		
	0 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
I	1,1	0,3	0,5	0,3	0,4	0,5	0,4
II	0,4	0,3	0,2	0,2	0,6	0,4	0,4
III	0,7	0,1	0,3	0	0,2	0,1	0
IV	0,2	0,2	0,1	0,1	0,4	0,1	0,3
V	0,5	0,3	0,4	0	0,4	0,4	0
VI	0,6	1,1	0,4	0,6	0,7	0,5	0,1
Summe	3,5	2,3	1,9	1,2	2,7	2,0	1,2
MW	0,6	0,4	0,3	0,2	0,5	0,3	0,2

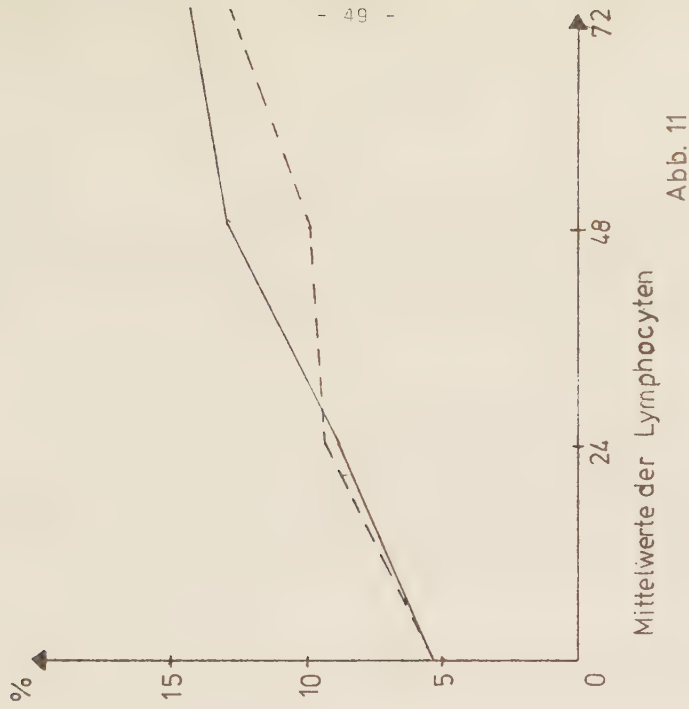
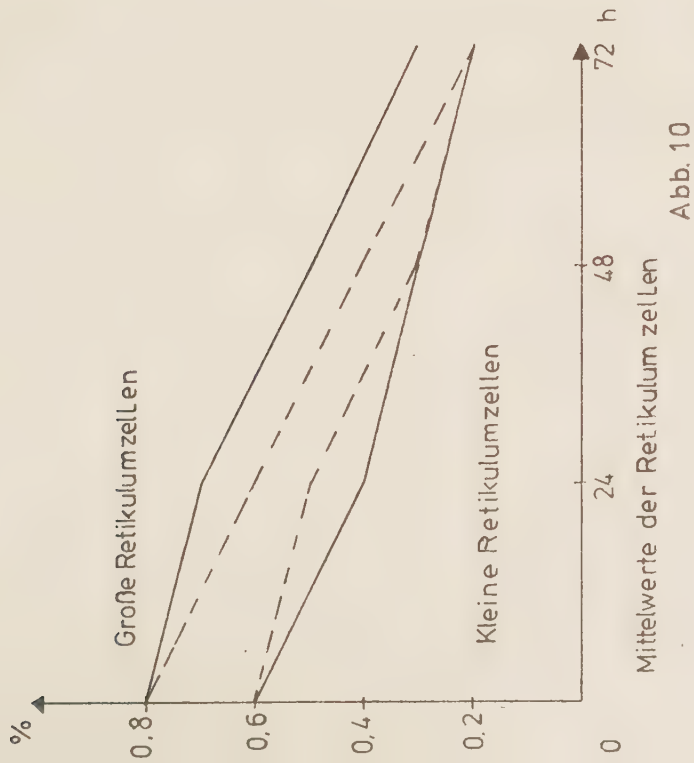
Tab. 17: Anzahl der kleinen Retikulumzellen in % der Gesamtzellzahl

MW = Mittelwert

Fall	Kontrollen				Ersatz		
	0 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
I	6,5	10,4	21,4	22,2	7,4	14,3	19,1
II	4,3	7,7	8,9	8,5	8,0	11,1	10,4
III	5,1	9,5	12,8	16,5	10,1	10,7	9,9
IV	4,4	8,7	9,2	10,1	9,9	8,4	11,8
V	5,1	6,7	12,2	14,9	10,5	9,9	14,3
VI	6,9	7,5	9,9	13,5	9,9	6,9	11,6
Summe	32,3	52,5	74,4	85,7	55,8	59,2	77,1
MW	5,4	8,8	12,9	14,3	9,3	9,9	12,9

Tab. 18: Anzahl der Lymphocyten in % der Gesamtzellzahl

MW = Mittelwert



Große Retikulumzellen (Abb. 10, Tab. 16)

Der prozentuale Anteil der großen Retikulumzellen wird im Cyclohexanolsulfat- und im Kontrollpräparat in annähernd gleichem Maße geringer.

Kleine Retikulumzellen (Abb. 10, Tab. 17)

Der prozentuale Anteil der kleinen Retikulumzellen wird im Cyclohexanolsulfat- und im Kontrollpräparat geringer. Die Kurven verlaufen annähernd deckungsgleich.

Lymphocyten (Abb. 11, Tab. 18)

Der prozentuale Anteil der Lymphocyten nimmt in beiden Kultur-reihen zu. Nach 24 Stunden steigen die Lymphocyten in gleichem Maße an. Nach 48 Stunden steigen die Lymphocyten des Cyclohexanolsulfatpräparates geringer an. Auch nach 72 Stunden finden sich im Zusatzpräparat prozentual weniger Lymphocyten.

DISKUSSION

Bei Untersuchungen über die Einwirkung von Corticosteroiden auf menschliches Knochenmark in vitro ergaben sich Unterschiede zwischen sulfatsubstituierten Steroiden (14, 20, 23) und sulfatfreien (8, 9, 13, 17, 21, 22).

Im Zusammenhang mit diesen Ergebnissen ist es Aufgabe dieser Untersuchung, die Wirkung von Cyclohexanolsulfat auf die Proliferation von menschlichen Knochenmarkszellen in vitro darzustellen. Diese Testsubstanz wurde gewählt, weil Cyclohexanol als inerte Substanz vermutlich keinen Effekt haben würde. Somit werden die Veränderungen der Knochenkulturen als durch den Sulfatrest bedingt angesehen.

Es wurde eine Konzentration von 0,1 µg/ml Cyclohexanolsulfat gewählt, um einerseits im Konzentrationsbereich der übrigen untersuchten Corticosteroide zu bleiben. Andererseits soll die Konzentration so hoch sein, daß überhaupt eine Einwirkung auf die Knochenmarkszellen erreicht wird.

Betrachtet man die Ergebnisse unserer Untersuchung, fällt am deutlichsten die Wirkung des Cyclohexanolsulfates auf die Erythropoese ins Auge. In der Mittelwertkurve (Abb. 8) findet sich nach 24 und 48 Stunden eine eindeutige Linksverschiebung als Ausdruck einer Reifungsförderung. Das gleiche Kurvenbild findet sich auch in der zusammenfassenden Darstellung der Versuche I und II mit normalem Knochenmark (Abb. 7), ebenso wie in den Kurven der anderen 4 Versuche mit pathologischem Knochenmark. Aufgrund dieser Ergebnisse kann dem Cyclohexanolsulfat eine reifungsfördernde Wirkung auf die menschliche Erythropoese unterstellt werden.

Vergleicht man hierzu die Untersuchungsergebnisse von sulfatsubstituierten Corticosteroiden, so ergibt sich eine auffällige Übereinstimmung mit SCHELLACK (20), WILDE (23) und HEINES (14), die Prednisolonsulfat, Dexamethasonsulfat, Dexamethasonhemisulfat und Fluocortolonsulfat jeweils in der Konzentration von

0,25 mg/ml untersuchten, wenn auch besonders die stärkere Wirkung des Fluocortolonsulfats gegenüber dem Dexamethasonsulfat auf die Reifung der Erythropoese auffiel.

Dem gegenüber fanden WEISSENFELS/BOLL und CHRISTOPH (21, 8, 9) bei Zusatz von 0,25 mg/ml Triamcinolon bzw. Prednisolonacetat und KOCH (17) mit Fluocortolon eine Reifungshemmung der Erythropoese.

GLÜCKLER (13) und WICHMANN (22) fanden allerdings mit dem nicht sulfurierten Hydrocortison in der Konzentration von 0,25 mg/ml bzw. 1,0 mg/ml eine Reifungsförderung der Erythropoese.

WICHMANN (22) erklärt die Hydrocortisonwirkung, die von der Einwirkung der anderen nicht sulfurierten Corticosteroide abweicht, mit einem dem Hydrocortison eigenen "spezifischen pharmakokinetischen Effekt" (a.a.O., S. 64).

Auf die Mitoserate der Erythropoese ist die Wirkung von Cyclohexanolsulfat nur gering. Bei den Versuchen I, III und V fand sich eine Verminderung, die Mittelwerte aller Versuche zeigten eine geringfügige Erhöhung, die Mittelwerte der Versuche I und II zeigten eine deutliche Erhöhung des Mitoseindex. Wenn diese geringe Regenerationsförderung eine Wirkung des Sulfats wäre, entspräche sie den früheren Ergebnissen mit den 4 sulfurierten Corticoiden (14, 20, 23).

Zusammenfassend läßt sich über die Einwirkung auf die Erythropoese sagen, daß Sulfat deutlich die Reifung fördert, während die Regenerationsförderung nicht sicher nachweisbar ist.

Auf die Reifung der Granulopoese stellt sich die Wirkung von Cyclohexanolsulfat uneinheitlich dar. Die Knochenmarkkulturen der beiden knochenmarknormalen Proben zeigten nach 24 Stunden eine signifikante Rechtsverschiebung als Ausdruck einer Reifungsförderung (Abb. 7). Dagegen zeigten alle übrigen Versuche eine signifikante Linksverschiebung als Ausdruck einer Reifungsförderung (Abb. 3 - 6, 8). Nach 48 und 72 Stunden findet sich nicht bei allen Versuchen eine Reifungsförderung.

Die Mitoserate der Cyclohexanolsulfatkulturen ist in fast allen Versuchen nach 24 Stunden höher als die der Kontrollkulturen (Tab. 3). Dabei fällt die stärkere Erhöhung der Versuche I und II mit unauffälligem Knochenmark auf (Tab. 3). Auch nach 48 und 72 Stunden sind bei diesen beiden Versuchen die Mitoseraten der Zusatzkulturen höher. Die Mitoserate aller Fälle gemeinsam betrachtet hingegen ist in der Zusatzkultur nur geringfügig höher.

Betrachtet man diese Ergebnisse im Zusammenhang mit den Untersuchungsergebnissen von Corticosteroiden auf menschliches Knochenmark in vitro, so ergibt sich folgendes: alle in der angeführten Reihenuntersuchung getesteten Corticoide außer Hydrocortison (22) bewirken eine Reifungshemmung der Granulopoese (8, 9, 14, 17, 21, 23). Auf die Mitoserate wirken die untersuchten Corticoide unterschiedlich. Dexamethasonsulfat (23), Dexamethasonhemisulfat, Fluocortolonhemisulfat (14), Fluocortolon (17) und Hydrocortison (13, 22) bewirken wie Cyclohexanolsulfat eine Steigerung der Mitoserate. Triamcinolon und Prednisolonacetat (8, 9, 21) hingegen bewirken eine Verminderung derselben.

Unsere Ergebnisse lassen im Zusammenhang mit den eben angeführten Ergebnissen anderer Autoren den Schluß zu, daß Sulfat die Regeneration der Granulopoese fördert. Dieser gleiche Effekt des Hydrocortison könnte durch eine dieser Substanz eigene Wirkung hervorgerufen werden. Auch auf die Reifung hat Cyclohexanolsulfat einen nicht sehr ausgeprägten fördernden Effekt.

In der Verteilung der Mitosephasen bewirkt Cyclohexanolsulfat keine Unterschiede zwischen Kontroll- und Zusatzkulturen (Abb. 9).

Eine Wirkung von Cyclohexanolsulfat auf die Anzahl der großen und kleinen Retikulumzellen ist nicht festzustellen (Abb. 10, Tab. 17, 18). Zu keiner Zeit fand sich zwischen den Zusatz- und Kontrollkulturen ein signifikanter Unterschied. In der Literatur hingegen finden sich bei sulfatsubstituierten Corticoiden (13, 23) und Fluocortolon (17) Angaben über eine Vermehrung von

großen und kleinen Retikulumzellen. Prednisolonacetat und Triamcinolon (8, 9, 21) führten zu einer Verminderung. Wir konnten in unserer Untersuchung keine Übereinstimmung mit diesen Ergebnissen feststellen, die auf eine Wirkung von Sulfat hinweisen würden.

Der Einfluß von Cyclohexanolsulfat auf die Lymphocyten ist geringfügig. Es bewirkt nach 48 und 72 Stunden eine etwas geringere Vermehrung gegenüber der Kontrollkultur. Die Ergebnisse in der Literatur dazu sind uneinheitlich. Dexamethasonsulfat (14, 23) bewirkt nach 24 Stunden eine Förderung, nach 48 und 72 Stunden hingegen eine Hemmung der Lymphocyten. Fluocortolon-hemisulfat (14) und Hydrocortison (13, 22) demgegenüber hemmen an allen drei Kulturtagen die Lymphocyten. Eine geringe Vermehrung findet sich nach Prednisolonacetat und Triamcinolon (8, 9, 21). Unsere Untersuchung ergibt deswegen keine Hinweise auf eine Sulfatwirkung auf die Lymphocyten.

Zusammenfassend läßt sich über die unterschiedliche Corticosteroidwirkung sagen, daß aufgrund unserer Untersuchungsergebnisse mit einem Einfluß des Sulfates bei in vitro Experimenten gerechnet werden muß. Dabei steht die Wirkung auf die Reifung der Erythropoese im Vordergrund, neben einer Förderung der Mitosen.

Bei in vitro Experimenten hingegen finden sich andere Mechanismen der Pharmakokinetik (HEINES, 14). Dabei ist zu beachten, daß sulfatsubstituierte Corticosteroide in vivo sicherlich einem Metabolismus unterworfen sind, durch den Sulfat an- und abgespalten werden kann (19). So ist in vivo nicht gesichert, ob sulfurierte Corticosteroide am Wirkort als Sulfatester aktiv werden können. Dies könnte einer der Gründe für die Unterschiede zwischen in vivo und in vitro Experimenten sein.

Überlegungen zu einem möglichen Wirkmechanismus von unspezifischen Substanzen auf Zellaktivitäten finden sich bei DIAMANTSTEIN, T. und Mitarbeitern. DIAMANTSTEIN, T. u.a. (2) fanden bei Zusatz von Dextransulfat (50 µg/ml) zu Thymuszellen von Mäusen eine Resistenz gegenüber Hydrocortison. Lymphocyten von

Mäusen ließen sich durch Dextransulfat (100 μ g/ml) stimulieren (10). Ebenfalls wurden Mäusefibroblasten von Dextransulfat stimuliert (11). DIAMANTSTEIN und Mitarbeiter postulieren dazu einen hormonähnlichen Effekt des Dextransulfates. Dabei könnte diese Substanz mit einem unspezifischen Rezeptor einer Zellmembran reagieren. Dadurch würde ein second messenger angeregt. Dieser könnte eine Veränderung der Zellaktivität auslösen (2). In Parallele dazu ließen sich auch Veränderungen an der Zellmembran von Knochenmarkzellen durch Cyclohexanolsulfat vorstellen.

ZUSAMMENFASSUNG DER ARBEIT

Die Wirkung von Cyclohexanolsulfat ($0,1 \mu\text{g/ml}$) wurde an 6 menschlichen Knochenmarkkulturserien untersucht, um zu klären, ob die unterschiedliche Wirkung zwischen sulfurierten und nicht sulfurierten Corticosteroiden eine spezifische Sulfatwirkung ist.

In allen Versuchen bewirkte dieses Cyclohexanolsulfat eine signifikante Reifungsförderung der Erythropoese. Eine Regenerationsförderung fand sich nur mäßig und bei 3 Versuchen nach 24 Stunden.

Die Wirkung auf die Granulopoese ist unterschiedlich. Bei 2 nicht pathologischen Knochenmarkkulturen fand sich eine ausgeprägte Reifungsförderung, bei den übrigen eine Reifungshemmung. Die Regeneration der Granulopoese wurde in den Cyclohexanolsulfatkulturen nach 24 Stunden gefördert.

Eine Wirkung auf die Verteilung der Mitosephasen, auf die Anzahl der Retikulumzellen und der Lymphocyten fand sich nicht.

Daraus ergibt sich, daß die bei sulfurierten Corticosteroiden (14, 20, 23) gefundene Proliferationsförderung der Erythropoese und Regenerationsförderung der Granulopoese mit einer Sulfatwirkung erklärt werden kann.

Diese Arbeit wurde von der "Deutschen Forschungsgemeinschaft" unterstützt.

LITERATURVERZEICHNIS

1. BELITZ, H.-J.:
Die Anwendung statistischer Methoden in der Biologie.
In: "Der Mathematikunterricht", Heft 3/60,
Klett (Stuttgart 1960)
2. BLITSTEIN-WILLINGER, E., DIAMANTSTEIN, T.:
Dextran sulfate (DS) converts hydrocortisone (HC)-sensitive
thymocyte to HC-resistant cells.
Zeitschrift für Immunitätsforschung
Bd. 150, Heft 3, S. 195 (1975)
3. BOLL, I.:
Granulopoese unter physiologischen und pathologischen
Bedingungen.
Springer Verlag, Heidelberg (1966)
4. BOLL, I., MERSCH, G., SCHOEN, S., GÖTTKE, U., BOXHEIMER, D.,
LUCKE, G.:
Hormoneinwirkung auf die Proliferationskinetik humaner
Knochenmarkkulturen.
Klin. Wschr. 46, 610 (1968)
5. BOLL, I.:
Leitfaden der cytologischen Knochenmark-Diagnostik.
"Hämatologie und Bluttransfusion", Bd. 11
J.F. Lehmann Verlag (München 1973)
6. BUDDECKE, E.:
Grundriß der Biochemie.
Walter de Gruyter (Berlin 1971)
7. CAVALLI-SFORZA, L.:
Biometrie
Fischer (Stuttgart 1969)
8. CHRISTOPH, B.:
Die Einwirkung von Triamcinolon auf menschliches Knochen-
mark in vitro.
Diss. (Berlin 1972)
9. CHRISTOPH, U.:
Die Einwirkung von Prednisolonacetat auf menschliches
Knochenmark in vitro.
Diss. (Berlin 1972)
10. DIAMANTSTEIN, T., RÜHL, H., VOGT, W., BORCHERT, G.:
Stimulation of B-cells by Dextran Sulphate in vitro.
Immunology 25, 743 (1973)
11. DIAMANTSTEIN, T., BLITSTEIN-WILLINGER, E., SCHULZ, G.:
Polyanions and lipopolysaccharide acts on different
subpopulations of B-cells.
Natur, Vol. 250, No. 5467, p. 596 (1974)

12. FUCHS, G.:
Mathematik für Mediziner und Biologen.
Springer Berlin-Heidelberg-New York (1969)
13. GLÖCKLER, C.:
Die Einwirkung von 0,25 µg/ml Hydrocortison auf menschliches Knochenmark in vitro.
Diss. (Berlin 1975)
14. HEINES, W.:
Die Einwirkung von Dexamethasonhemisulfat im Vergleich mit Fluocortolonhemisulfat auf menschliches Knochenmark in vitro.
Diss. (Berlin 1977 in Druck)
15. HUNNIUS, C.:
Pharmazeutisches Wörterbuch
Walter de Gruyter, Berlin-New York (1975)
16. KARRER, P.:
Lehrbuch der organischen Chemie.
G. Thieme Verlag, Stuttgart (1963)
17. KOCH, H. M.:
Die Einwirkung von Fluocortolon auf menschliches Knochenmark in vitro.
Diss. (Berlin 1975)
18. RAPPOPORT, S. M.:
Medizinische Biochemie.
VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin (1975)
19. RIESEN, I. v., ALBRECHT, M.:
Einführung in die Zelldiagnostik des menschlichen Knochenmarks und Blutes.
Walter de Gruyter, Berlin (1957)
20. SCHELLACK, A.:
Die Einwirkung von Prednisolonsulfat auf menschliches Knochenmark in vitro.
Diss. (Berlin in Vorbereitung)
21. WEISSENFELS, I., BOLL, I.:
Die Einwirkung von Corticosteroiden (Prednisolonacetat und Triamcinolon) auf menschliches Knochenmark in vitro.
Klin. Wschr., 51, 907 - 914 (1973)
22. WICHMANN, S.:
Die Einwirkung von 1,0 µg/ml Hydrocortison auf menschliches Knochenmark in vitro.
Diss. (Berlin 1976, in Druck)
23. WILDE, G.:
Die Einwirkung von Dexamethasonsulfat auf menschliches Knochenmark in vitro.
Diss. (Berlin 1974)

Frau Professor Dr. med. Irene Boll
bin ich für die Überlassung des Themas und die freundliche
Unterstützung dieser Arbeit zu besonderem Dank verpflichtet.

LEBENS LAUF

Am 1. Juli 1950 wurde ich, Heinrich Eitmann, als erstes Kind des Arztes Dr. med. Heinrich Eitmann und seiner Ehefrau Herma, geb. Brocks, in Bremen geboren.

Von Ostern 1957 bis zum Frühjahr 1961 besuchte ich die "Grundschule am Pulverberg" in Bremen. Anschließend wechselte ich in das "Alte Gymnasium zu Bremen" über, wo ich am 9. Mai 1969 das Abitur bestand.

Nach Ableistung des Wehrdienstes habe ich zum Sommersemester 1971 an der "Freien Universität Berlin" mit dem Studium der Humanmedizin begonnen. Im Wintersemester 1971/72 absolvierte ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung. Nach weiteren zwei Semestern bestand ich im Frühjahr 1973 die ärztliche Vorprüfung.

Am 11. Oktober 1976 habe ich das Staatsexamen an der "Freien Universität Berlin" bestanden.

Nach 4monatiger Medizinalassistentenzeit im Städtischen Behring-Krankenhaus Berlin in der I. Inneren Abteilung (Leiter: Prof. Dr. med. Lerche) bin ich seit dem 1. März 1977 in der chirurgischen Abteilung des Martin-Luther-Krankenhauses Berlin (Leiter: Prof. Dr. med. Rücker) tätig.

